

ПОТРЕБЛЕНИЕ НЕМАТОДАМИ НЕКОТОРЫХ
АМИНОКИСЛОТ ИЗ ГИДРОЛИЗАТА КАЗЕИНА

Е. А. Дрюченко и Г. Т. Бердыева

Лаборатория гельминтологии АН СССР, Москва

В статье рассмотрены данные по потреблению аргинина и лизина из гидролизата казеина нематодами *Ascaridia galli* и *Ascaris suum*. Паразиты полностью поглощают указанные аминокислоты. В среде содержания гельминтов наблюдалось нарастание концентрации лейцина с изолейцином и валина с метионином. Было показано, что, несмотря на различие хозяев и различие в систематическом положении нематод, не наблюдалось качественных расхождений в потреблении и выбросе аминокислот.

Эффективная терапия гельминтозов может успешно развиваться только с учетом особенностей процессов обмена веществ и в первую очередь питания, обеспечивающего жизнеспособность паразитов в организме хозяина. Однако потребление белков и вопросы незаменимости аминокислот у нематод остаются вопросами мало изученными.

Присутствие нематод в кишечнике хозяина не может не оказывать влияния на утилизацию хозяином незаменимых для него аминокислот и других важнейших компонентов пищи. В настоящее время известна потребность для некоторых млекопитающих и человека не только в необходимом количестве белка для жизнедеятельности организма, но и главным образом, в обеспечении качества белка, белка с определенным соотношением незаменимых аминокислот (Hager, 1959, 1965). Соотношение аминокислот определяет биологическую ценность белков. Для паразитических червей специфика потребления белков различной биологической ценности неизвестна, также неизвестны потребление аминокислот, их незаменимость и возможность существования гельминтов на неполноценной по белку диете.

Известно, что питание различных нематод адаптировано к условиям среды обитания (Парамонов, 1954; Lee, 1965), но нематоды (*Ascaris*, *Oxyuris*, *Ascaridia*), питающиеся содержимым пищеварительного тракта, т. е. переваренной пищей, тем не менее не утратили в процессе адаптации протеолитические ферменты, хотя и наблюдается разность в активности этих ферментов, связанная с экологическими условиями и с особенностями питания.

Ряд исследователей указывают на возможность синтеза в организме свободноживущих нематод аланина, серина, пролина, глютаминовой и аспарагиновой кислот, возможен синтез лизина, валина (Rotstein-Tomlinson, 1961). Говоровой (1965) было показано, что *Ascaridia galli* выбрасывают в среду обитания аланин, глютаминовую кислоту, пролин, тирозин, валин, фенилаланин, лейцин-изолейцин при содержании в углеводно-солевой среде. Интересные данные получены Смитом (Smyth, 1966) при исследовании трематод. При культивировании их в среде, содержащей смесь аминокислот, наблюдается выделение в среду аланина, пролина и орнитина наряду со значительным поглощением гистидина, триптофана и

аргинина. Эти данные указывают на активный избирательный транспорт аминокислот и на определенную потребность в утилизируемых аминокислотах. Указанные аминокислоты находятся в больших количествах в полноценных белках, таких, как казеин.

Цель нашей работы — выяснить, какие аминокислоты преимущественно потребляются нематодами (*Ascaris suum* и *Ascaridia galli*) из гидролизата полноценного белка-казеина.

Опыты проводились *in vitro*. Свиные аскариды собирались на бойне. *Ascaridia galli* собирались на птицефабрике. Те и другие доставлялись в лабораторию в теплом физиологическом растворе. Нематод промывали и переносили в свежий раствор Рингера, затем помещали в термостат при 38°. После 24 час. голодания нематод *Asc. suum* по одному экз. помещали в цилиндры на 25 мл с гидролизатом казеина. Гидролизат казеина разбавлялся соевым раствором (Goil, 1958). *Ascaridia galli* помещали по 30 экз. в 20 мл. После опыта *Ascaris suum* измерялись по длине и диаметру, *A. galli* взвешивались. О потреблении аминокислот судили по разности между первоначальной концентрацией аминокислоты и конечной после 24 час. содержания в среде в термостате при 38°. В выбранных нами условиях *A. suum* и *A. galli* хорошо выживали. О жизнеспособности их мы судили по подвижности и тургору.

Для определения аминокислот использовали метод одномерной хроматографии на бумаге FN-2. В качестве растворителя применяли систему *n*-бутанол—ледяная уксусная кислота—вода в соотношении 4 : 1 : 5 (I) и 40 : 15 : 5 (II). Для разделения аминокислот растворитель пропускали 3 раза — дважды № I и один раз № II. Количественное определение аминокислот проводили спектрофотометрически на приборе СФ-4А (Пасхина, 1964). Аммиак и мочевина определялись по методу Конвея.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами были проведены три серии опытов, которые отличались только исходной концентрацией гидролизата казеина в среде содержания. Во всех сериях имело место преимущественное выделение аммиака (70—80%) по сравнению с мочевиной. Это свидетельствует о благоприятных условиях содержания, так как нематод относят к животным аммонотелического типа обмена.

При помещении нематод в среду, содержащую гидролизат казеина, мы наблюдали полное поглощение аргинина и лизина (табл. 1 и 2). Эти аминокислоты являются незаменимыми для позвоночных и полное их поглощение гельминтами из среды, видимо, создает конкурентные отношения в кишечнике между хозяином и паразитом.

Т а б л и ц а 1
Поглощение аргинина из гидролизата казеина

Серии	<i>Ascaris suum</i>			<i>Ascaridia galli</i>		
	исходная концентрация аминокислот в растворе мкм/мл	концентрация аминокислот в среде обитания через 24 час. в мкм/мл	поглощение (в %)	исходная концентрация аминокислот в растворе в мкм/мл	концентрация аминокислот в среде обитания через 24 час. в мкм/мл	поглощение (в %)
I	2.6	0	100	2.2	0	100
II	4.0	0	100	4.4	0	100
III	8.0	0	100	7.1	0	100

Такое активное поглощение аргинина может быть объяснено тем, что для беспозвоночных характерно использование аргининфосфата, как соединения с высокоэнергетической фосфатной связью, вместо креатинфосфата, а также известно, что из аргинина идет синтез орнитина, мо-

Т а б л и ц а 2
Поглощение лизина из гидролизата казеина

Серии	<i>Ascaris suum</i>			<i>Ascaridia galli</i>		
	исходная концентрация аминокислот в растворе мкм/мл	концентрация аминокислот в среде обитания мкм/мл	поглощение (в %)	исходная концентрация аминокислот в растворе мкм/мл	концентрация аминокислот в среде обитания через 24 час. в мкм/мл	поглощение (в %)
I	4.4	0	100	4.2	0	95
II	8.2	0	100	8.0	0	100
III	15.5	0	100	15.5	0	100

чевины у всех исследованных цестод, трематод и др. (Janssen a. Brynt, 1969). Работами Лопез, Монтедива и Майор (Lopez-Gorge, Montediva u Mayor, 1969) показана заметная активность лизиндекарбоксилазы и выделение кадаверина у *A. lumbricoides* в окружающую среду.

Необходимо отметить, что в экспериментах с гидролизатом казеина мы не наблюдали значительного выделения аланина, тогда как при содержании гельминтов в условиях белкового голодания имеет место накопление аланина в полостной жидкости (Салменкова, 1962). При содержании *A. suum* в среде, имеющей только один аргинин, наблюдается появление значительного количества аланина в среде содержания (Павлов и др., 1970), а при содержании *A. galli* в углеводно-солевой среде наблюдается выделение в среду обитания аланина, глютаминовой кислоты, лейцина-изолейцина, пролина валина, фенил-аланина (Говорова, 1965). Видимо, синтез аланина является одним из путей детоксикации аммиака при неблагоприятных для паразита условиях содержания.

Наряду с поглощением аргинина и лизина в наших опытах мы наблюдали интенсивное выделение в среду лейцина и изолейцина (табл. 3). Кроме того, наблюдалось нарастание интенсивности окраски пятна на хроматограмме в области валина и метионина (табл. 4).

Т а б л и ц а 3
Выделение лейцина в среду обитания гельминтов

Серии	<i>Ascaris suum</i>		<i>Ascaridia galli</i>	
	исходная концентрация аминокислот в растворе мкм/мл	концентрация аминокислот в среде обитания через 24 час. мкм/мл	исходная концентрация аминокислот в растворе мкм/мл	концентрация аминокислот в среде обитания через 24 час. мкм/мл
I	5.2	13	5.8	18.1
II	10.4	23.3	10.9	19.2
III	19	31.5	16.0	27.9

Т а б л и ц а 4
Выделение аминокислот (валина + метионина) в среду обитания

Серии	<i>Ascaris suum</i>		<i>Ascaridia galli</i>	
	исходная концентрация аминокислот в растворе мкм/мл	концентрация аминокислот в среде обитания через 24 час. мкм/мл	исходная концентрация аминокислот в растворе мкм/мл	концентрация аминокислот в среде обитания через 24 час. мкм/мл
I	2.6	15.6	2.4	5.9
II	7.8	18.7	6.3	13.5
III	12.9	16.4	12	23

Так как в живом организме синтез и распад происходит непрерывно, в этом процессе используются аминокислоты как эндогенного, так и экзогенного происхождения. Выделение в просвет кишечника эндогенных аминокислот гельминта, возможно, является необходимым моментом для создания лучших условий всасывания аминокислот гидролизата для паразита. Выброс аминокислот в просвет кишечника может нарушать соотношение их и таким образом ухудшать условия всасывания аминокислот хозяином, так как известно, что благоприятные условия всасывания определяются соотношением их в кишечнике. С другой стороны, выброс таких аминокислот как метионин, лейцин — незаменимых, дефицитных аминокислот для позвоночных можно считать положительным фактором для хозяина. Все эти вопросы требуют дополнительных исследований. Несмотря на различие хозяев и различие в систематическом положении гельминтов, мы не наблюдали качественных расхождений в потреблении и в выделении исследованных аминокислот.

ВЫВОДЫ

1. Исследования показали, что нематоды *Ascaris suum* и *Ascaridia galli* полностью поглощают лизин и аргинин из гидролизата казеина.
2. При содержании *Ascaris suum* и *Ascaridia galli* в гидролизате полноценного белка (казеина) имеет место выделение в среду обитания лейцина с изолейцином и валина с метионином.
3. Несмотря на различие хозяев и различие в систематическом положении паразитов, не наблюдалось расхождений в потреблении и в выбросе аминокислот.

Л и т е р а т у р а

- Г о в о р о в а С. В. 1965. Конечные продукты азотистого обмена *Ascaridia galli*. Матер. научн. конф. ВОГ, II : 67—70.
- П а в л о в А. В., Ш и ш о в а - К а с а т о ч к и н а О. А. и В о л ы н с к а я К. Б. 1970. О транспорте аминокислот у нематод. Паразитол., 4 (3) : 231—235.
- П а р а м о н о в А. А. 1954. Специфичность фитогельминтов и ее значение в сельскохозяйственной практике. Зоол. журн., 33 (5) : 1014—1023.
- И а с х и н а Т. С. 1964. Современные методы в биохимии. Изд. Медицина: 162—180.
- С а л м е н к о в а Е. А. 1962. Состав свободных аминокислот полостной жидкости аскарид свиньи (*Ascaris suum* Goeze, 1782) и его изменение при культивировании аскарид в условиях белкового голодания. Мед. паразитол. и паразитарн. бол., 31 (6) : 664—669.
- G o i l M. M. 1958. Protein metabolism in trematoda parasites. J. Helminthol., 32 (8) : 119—129.
- H a r p e r A. E. 1959. Amino acid balance and imbalance. J. Nutrition, 68 (3) : 405.
- H a r p e r A. E. 1965. Amino acid imbalance. Proc. of the Nutrition Soc. 24 (1) : 3—22.
- J a n s s e n s P. A. a. B r y n t e 1969. The ornithine—urea cycle in some parasitic helminths. Compar. Biochem. and Physiol., 30 (2) : 261—272.
- L e e D. L. 1965. The Physiology of nematodes: 24—36.
- L o p e z - G o r g e , M o n t e d i v a M. y M a y o r F. 1969. Actividade lisinades-carboxilasa en *Ascaris lumbricoides* and *Moniezia expansa*. Rev. iber. parasitol., 29 (2—3) : 219—227.
- R o t s t e i n - T o m l i n s o n G. A. 1961. Biosynthesis of amino acids by the nematode *Coenorhabditis briggsae*. Biochim. et biophys. acta, 49 (3) : 625—627.
- S m y t h J. D. 1966. The Physiology of trematodes. Edinburgh and London : 46—50.

CONSUMPTION OF AMINO-ACIDS FROM CASEIN HYDROLYSATE BY NEMATODES

E. A. Druchenko and G. T. Berdyeva

S U M M A R Y

Studies were carried out of the arginine and lysine consumption from casein hydrolysate by nematodes, *Ascaris suum* and *Ascaridia galli*. Parasites consume the above amino-acids completely and simultaneously in the medium rises the concentration of leucine with isoleucine and valine with methionine. Helminths kept in vitro and exposed to protein hydrolysate excreted primarily ammonia (70 to 80%) as compared to urea. This suggests that the medium is favourable for maintenance of helminths as far as the latter were referred by most specialists to animals with ammonotelic type of metabolism. Despite the evident difference in hosts and systematic position of parasites there was no disagreement in the consumption and excretion of amino-acids.